



Title	新規細胞検出法：FACS-mQの開発
Author(s)	山田, 宏哉
Citation	大阪大学, 2011, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/58086">https://hdl.handle.net/11094/58086</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【14】	
氏 名	山 田 宏 哉
博士の専攻分野の名称	博士（保健学）
学 位 記 番 号	第 24458 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 23 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科保健学専攻
学 位 論 文 名	新規細胞検出法：FACS-mQの開発
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 岩谷 良則 (副査) 教 授 杉山 治夫 教 授 三善 英知

#### 論 文 内 容 の 要 旨

今後最も発展が期待できる医療分野として再生医学と癌幹細胞の研究がある。両者の進展には組織や血液などに少数含まれる幹細胞・癌幹細胞等を効率よく検出・解析する技術の開発が必須である。そのような技術としてはFACS(fluorescence activated cell sorting)が知られているが、FACSでの分離には通常適切な表面抗原を有していることが必須であり、また採取された細胞を解析するためにはその後の培養が必要で操作が煩雑であるため、適応できる細胞種は限られる。我々は、1) 細胞を適当な条件で固定・保存、2) mRNAが分解しない条件で目的の細胞が発現する細胞内抗原またはRNAを蛍光標識、3) FACSで目的の細胞を分離、4) 回収された細胞よりmRNAを抽出して遺伝子発現プロフィールを解析する、という一連の操作で、種々の検体中に存在する少数の細胞を任意の遺伝子の発現をマーカーとして分離し、回収された細胞の性質を解析するより汎用性のある技術の開発を目指

し、FACS-mQ (mRNA quantification after FACS) と名づけた。当研究では細胞株を使用してmRNA、細胞質抗原、核内抗原をターゲットとしたFACS-mQを試み、細胞を蛍光標識した後、FACSで分離し、細胞からRNAを抽出して遺伝子発現プロフィールを解析することに成功した。

#### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

今後最も発展が期待できる医療分野として再生医学と癌幹細胞の研究がある。両者の進展には組織や血液などに少数含まれる幹細胞・癌幹細胞等を効率よく検出・解析する技術の開発が必須である。そのような技術としてFACS(fluorescence activated cell sorting)が知られているが、FACSでの細胞分離には通常適切な表面抗原を有していることが必須であり、また採取された細胞を解析するためにはその後の培養が必要で操作が煩雑であるため、適応できる細胞種は限られる。

本論文は細胞のRNAを分解しない条件で、細胞内・核内蛋白、mRNAの発現を検出し、その発現パターンを指標に細胞を選別して、選別された細胞の遺伝子発現プロフィールを作成する技術としてFACS-mQ (mRNA quantification after FACS) の開発を行った。FACS-mQでは目的とする細胞の遺伝子発現さえわかれば、臨床検体中に存在する細胞数の有無や数の定量が可能となり、さらには細胞を回収して遺伝子プロフィールを作成することにより細胞の性質を同定することができる。この技術を用いることにより、従来の手法では困難であった組織中の幹細胞・癌幹細胞の有無の同定をはじめとする再生医療・細胞医療の研究に大きな進歩をもたらすと考えられる。

また血液や穿刺検体など様々な臨床サンプルを使用することが可能なため、血液疾患・炎症疾患・感染症など幅広い疾患の診断に応用されることが期待できる。

以上の事より、本論文は博士（保健学）の学位授与に値すると考えられる。